Étude histochimique des réserves de Graisses chez Gryphæa angulata *Lmk.*

Par Marie Bargeton.

En dehors de réserves de glycogène, généralement prépondérantes, il existe chez la plupart des Mollusques des réserves de graisses qui ne sont pas négligeables. Elles peuvent même chez certains d'entre eux, et notamment chez les Lamellibranches, s'accumuler en quantités importantes.

Toujours présentes chez l'Huître, ces réserves de graisses se montrent plus ou moins abondantes, variant selon les individus (Terroine, 1919), comme selon les saisons. Au printemps, pendant la gamétogenèse, leur taux s'élève progressivement, accuse un maximum très net, puis diminue brusquement après la ponte. (Pekelharing, 1902 ; Malcolm, 1911 ; Masumoto et Hibino, 1934).

L'étude histologique des graisses aux diverses périodes de l'année permet de suivre et d'interpréter les variations qu'indiquent les dosages : on voit, au printemps, les ovules se charger de quantités de graisses très importantes ; ils constituent ainsi peu à peu, dans la zone des gonades, des réserves de graisses beaucoup plus abondantes que celles de tous les autres tissus. Chez les Huîtres femelles d'espèces unisexuées, comme l'Huître portugaise, la zone des gonades, entièrement occupée par les ovules, apparaît encore plus riche en graisses et contraste de manière frappante avec le tissu conjonctif vésiculeux et les acini de la glande digestive.

Après la ponte au contraire, et jusqu'au printemps suivant, les réserves de graisses se distribuent d'une manière beaucoup plus uniforme ; elles se répartissent également dans le tissu conjonctif vésiculeux qui a envahi la zone des gonades et dans celui qui constitue en toute saison le parenchyme conjonctif de l'Huître.

Sans insister davantage sur les réserves de graisses des ovules dont l'étude reste inséparable de celle de la gamétogenèse, j'essaierai de préciser ici quelques-unes des particularités histochimiques des enclaves adipeuses du tissu conjonctif vésiculeux et de la glande digestive.

Distribution des graisses dans le tissu conjonctif vésiculeux. — C'est en démontrant la nature cellulaire des vésicules de Langer ou cellules de Leydig des Mollusques, que Flemming (1877) aperçut disséminées dans tout leur cytoplasme des granulations noircissant par l'acide

osmique ; Thiele, quelques années plus tard, les observa à nouveau et les interpréta comme des graisses.

Les cellules de Leydig se montrent chez l'Huître particulièrement riches en graisses. Ce sont d'ailleurs les seuls éléments du tissu conjonctif susceptibles d'en contenir ; elles forment en effet avec les cellules conjonctives fixes l'essentiel de ce tissu où ne figurent aucun des autres types cellulaires très répandus chez les Mollusques, tels que les Rundzellen par exemple aussi chargées de graisses chez les Mytilidés que les cellules de Leydig avoisinantes (Daniel, 1922).

Examinées à l'état frais, les graisses des cellules de Leydig apparaissent comme d'innombrables gouttelettes réfringentes et incolores.

Fixées au formol, colorées au Noir ou au Rouge soudane, elles présentent une disposition très caractéristique : plaquées contre la paroi, elles forment à la périphérie de la cellule une couche épaisse et se groupent au centre autour du noyau ; elles dessinent enfin des traînées qui relient le cytoplasme périnucléaire au cytoplame pariétal. Il semblerait donc après une fixation au formol, que les graisses de la cellule de Leydig se cantonnent à des zones très restreintes du cytoplasme entre lesquelles s'étendent de grandes plages claires apparemment vides.

Une fixation de caractère plus cytologique (Liquide de Meves ou de Benoît) donne de la répartition des graisses une image très différente : colorées en brun ou en bistre par l'acide osmique, elles apparaissent aussi assez nombreuses au voisinage de la paroi, mais semblent se distribuer de manière quelconque dans tout le reste de la cellule.

L'élaboration de réserves de graisses paraît être une faculté permanente des cellules de Leydig de l'Huître et ne semble pas directement liée ni à leur taille ni à leur âge. La présence d'enclaves de graisses ne se limite en effet nullement, comme l'indique Pekelharing, aux cellules vésiculeuses les plus grandes et se retrouve jusque dans les plus petites. Elle ne semble pas davantage dépendre de l'âge des cellules puisque ces enclaves se rencontrent aussi bien dans les jeunes cellules formées dans la zone des gonades immédiatement après la ponte que dans les cellules plus âgées de la couche périgastrique.

Nature des graisses des cellules de Leydig. — Pour préciser la nature des enclaves de graisses des cellules de Leydig, j'ai recouru aux méthodes considérées actuellement comme les plus spécifiques des différentes catégories de lipides, méthodes que j'ai utilisées selon un protocole d'analyse dichotomique [1].

1. Je me suis conformée en général aux indications fournies par Lison (1933).

Ces graisses, on l'a vu plus haut, apparaissent sur le vivant comme des gouttelettes absolument incolores, ce qui permet d'écarter d'emblée le diagnostic de carotinoïdes ou de chromolipoïdes.

La réaction caractéristique du cholestérol et de ses esters (réaction de Liebermann à l'acide sulfurique et l'anhydride acétique, réaction de Windaus à la digitonine) se montrent également négatives. Ce résultat s'accorde avec ce que l'on sait de la répartition des stérols chez l'Huître : sous forme d'ostreastérol notamment, ils prédominent dans le muscle adducteur et se trouvent au contraire en quantités négligeables dans le « tronc », c'est-à-dire dans la glande digestive et le tissu conjonctif vésiculeux de la zone des gonades, de l'estomac et de l'intestin (Bergmann, 1934).

Arrivé à ce point de l'analyse où, d'après l'ordre des méthodes utilisées, lipines et glycérides restent le seul diagnostic possible, c'est au microscope polarisant qu'ont été examinées les cellules de Leydig de l'Huître. Que ce soit à l'état frais ou après fixation au formol, leurs enclaves de graisses se montrent, entre nicols croisés, complètement obscures alors que sur les mêmes préparations les bordures en brosse de l'épithélium digestif et les fibres musculaires qui s'insèrent à sa base apparaissent fortement biréfrigérentes. L'absence de biréfringence ne suffit pourtant pas à éliminer les lipines. D'ailleurs la réaction de Smith-Dietrich considérée par beaucoup d'auteurs comme caractéristique des lipines lorsqu'elle donne une coloration violet-noir, s'est toujours montrée positive dans les essais répétés qui en ont été faits. Les graisses des cellules de Leydig, sur coupes à congélation, sont, après chromage prolongé et coloration par l'hématoxyline de Kultschitzky, soumises à une différenciation très poussée (la réaction est particulièrement nette lorsqu'on tient compte des modifications introduites par Kauffmann et Lehmann (1928) : chromisation et traitement par l'hématoxyline à 60° et non à 37°). Indiquons toutefois que la méthode de Ciaccio qui consiste à caractériser les phospholipines et galactolipines par leur insolubilité dans l'acétone ne m'a donné que des résultats négatifs, les graisses des cellules de Leydig disparaissant entièrement au cours de ce traitement.

Cette analyse a été complétée par la recherche dans les cellules de Leydig de la réaction de Feulgen-Verne, ancienne réaction « plasmale », qui consiste à traiter les tissus étudiés par le réactif de Schiff après passage dans une solution de sublimé. Ainsi traités les globules lipidiques des cellules de Leydig prennent une teinte violet vif contrastant avec l'aspect incolore que gardent les coupes témoins non soumises à l'action du sublimé. La présence constante de « plasmal » au niveau des enclaves lipidiques témoigne d'un certain degré d'oxydation des graisses de la cellule de Leydig, oxydation qui entraînerait la formation d'aldéhydes, démasquées par le passage

au sublimé et régénérant comme toutes les aldéhydes la fuchsine du réactif de Schiff.

Si nombreuses que puissent être les enclaves de graisses dans les cellules de Leydig, le glycogène n'en reste pas moins la réserve la plus importante et la plus caractéristique des cellules de Leydig ; il paraît intéressant de rechercher quels rapports existent entre ces deux catégories de réserves au sein des mêmes cellules.

La fixation histochimique des graisses permet, dans une certaine mesure, d'apprécier leur quantité ; il n'en va pas de même du glycogène, qui mal fixé le plus souvent, se porte à un pôle de la cellule, dessinant un croissant caractéristique ou bien précipite en granule et en mottes de tailles inégales. Aussi ne reste-t-il d'autre manière de l'évaluer que de recourir à des méthodes d'ordre purement chimique. Des microdosages de glycogène dans le tissu conjonctif vésiculeux de l'Huître, où ne figurent pratiquement que des cellules de Leydig, m'ont permis de préciser la teneur en glycogène de ces cellules et de rapprocher les résultats ainsi obtenus des indications fournies par les méthodes histochimiques sur les graisses de ce même tissu. Une telle recherche montre que loin de s'exclure glycogène et graisses coexistent souvent en grande quantité dans les cellules de Leydig de l'Huître, les plus hautes teneurs en glycogène que j'aie jusqu'à présent notées (13,5 % de poids frais, 65 % de poids sec) se rapportant justement aux cellules vésiculeuses les plus riches en graisses qu'il m'ait été donné d'observer.

Les Graisses de la « glande digestive », — Dans des recherches sur la glande digestive des Mollusques et des Crustacés Décapodes, Mac Mun (1900) mentionne l'existence de graisses dans les acini digestifs de l'Huître.

Par la suite, plusieurs auteurs ont décrit dans ces mêmes acini et dans ceux d'autres Lamellibranches, des granulations jaunes et brunes mais sans établir de lien direct entre leur présence et celle de réserves de graisses. Il semble toutefois que ces inclusions soient pour la plus grande part de nature lipidique, comme on peut s'en convaincre en traitant une coupe de glande digestive par un colorant des corps gras : les granulations se colorent électivement et apparaissent comme les seuls éléments des cellules glandulaires à se colorer ainsi.

Ces granulations, que leur teinte naturelle permet d'observer facilement sans le secours d'aucune coloration, manquent dans l'épithélium des conduits de la glande et figurent uniquement dans les acini proprement dits : là, elles apparaissent sur coupe transversale strictement localisées aux massifs de cellules hautes et claires qui font saillie dans la lumière des tubules ; en revanche, il n'en existe pas trace dans les petites cellules plus sombres des

« cryptes » que l'on observe entre ces massifs. Leur présence pourrait être liée à l'âge des cellules granuleuses de l'épithélium digestif, puisque les petites cellules sombres des cryptes ne seraient selon Yonge (1926) que des cellules jeunes destinées à remplacer les cellules hautes des massifs.

Etudiant la composition chimique des Huîtres néo-zélandaises, Malcolm (1911) a recherché la nature des graisses qui s'y trouvaient contenues et plus spécialement celle des graisses de la glande digestive ; se basant sur la comparaison de leur caractère de solubilité dans l'eau, l'acétone, l'alcool amylique etc., il les a définies comme des lipochromes. C'est à la même conclusion que conduit l'emploi de méthodes de détermination histochimique dont nous disposons actuellement.

Leur coloration jaune et brune permet de considérer à première vue ces graisses soit comme des carotinoïdes, soit comme des chromolipoïdes si largement répandus les uns et les autres chez les Invertébrés. Mais elles ne donnent traitées par l'eau iodo-iodurée et par l'acide sulfurique aucune des réactions propres aux carotinoïdes et montrent au contraire tous les caractères des chromolipoïdes : elles prennent les colorants des graisses (Noir et Rouge Soudane, Soudan III et IV) se colorent d'une manière inconstante par l'hématoxyline de Kultschitzky et se décolorent en 2 à 3 jours par l'eau oxygénée ; en outre, elles ne réduisent pas les solutions d'argent ammoniacal ce qui suffit à les distinguer du groupe des mélanines.

J'ai recherché enfin dans la glande digestive la présence de produits d'oxydation (ou « plasmal ») des graisses ; mais ici la réaction de Feulgen-Verne s'est montré négative pour ce qui est des acini et n'a donné qu'une teinte mauve diffuse sans signification histochimique au niveau des épithéliums des conduits. Seules ont pris une teinte violet franc, indice d'une exécution correcte de la méthode, les graisses des cellules de Leydig qui se trouvent entre les acini digestifs.

Variations et rôle des réserves de graisses. — En dehors de la période de gamétogenèse, il existe chez l'Huître des variations très marquées des réserves de graisses ; certaines d'entre elles paraissent dépendre des modifications de facteurs externes (température, salinité) mais les autres s'observent à tous les moments de l'année entre les Huîtres d'une même provenance et semblent avant tout répondre à des différences individuelles.

Au point de vue chimique ces variations correspondent à des teneurs en graisse très inégales d'un individu à l'autre (0,7 % à 2 % de poids frais, Terroine 1919) ; elles se manifestent morphologiquement par des aspects très différents du tissu conjonctif

vésiculeux. A côté de forme en parenchyme plein où les cellules de Leydig sont serrées les unes contre les autres, ce tissu peut présenter une structure plus ou moins lacunaire et se transformer même en un réseau à mailles lâches ; à ces diverses formes de tissu conjonctif visiculeux correspondent naturellement des teneurs en graisses d'autant plus faibles que les cellules de Leydig s'y montrent moins nombreuses.

Toutes les variations de la teneur en graisses ne peuvent cependant s'expliquer entièrement par des différences individuelles et certaines d'entre elles doivent être considérées comme des variations saisonnières proprement dites. Après les périodes de grand froid par exemple, la proportion d'Huîtres pauvres en réserves s'élève notablement. Cet appauvrissement général suggère que chez un certain nombre d'individus les graisses ont été utilisées par l'animal, compensant dans une certaine mesure la sous-alimentation entraînée par le froid (Galstoff, 1928).

Qu'il s'agisse de variations individuelles ou de variations saisonnières, les graisses de la glande digestive subissent également des modifications importantes qui se traduisent par la présence en quantités très inégales de granulations lipidiques dans les cellules des acini digestifs. Variant dans le même sens que les graisses du tissu conjonctif vésiculeux, les graisses de la glande digestive semblent soumises aux mêmes influences ; pendant les périodes de froid, elles se raréfient à l'extrême comme dans le jeûne expérimental où elles finissent par disparaître complètement (List, 1902).

Dès le début de la gamétogenèse, les follicules génitaux se développent rapidement, envahissent toute la zone des gonades, et se substituent au tissu conjonctif interstitiel. Ainsi se trouvent libérée une certaine quantité de graisses, très variable d'ailleurs d'un individu à l'autre ; les graisses ainsi libérées se trouvent au voisinage immédiat des gamètes et participent peut-être directement à la constitution de leurs réserves. Les dosages, pratiquées sur des Huîtres hermaphrodites ou sur des Huîtres femelles, ne peuvent pas rendre compte de la disparition de ces graisses, disparition qui se trouve largement compensée par les réserves adipeuses qui se forment dans les gamètes femelles ; seuls pourraient l'accuser des dosages sur la gonade isolée d'Huîtres mâles. Pendant toute cette période le reste du tissu conjonctif vésiculeux ne se modifie pas sensiblement. Il se montre, selon les cas, plus ou moins riche en graisses, sans qu'il soit possible d'établir sur ce point une distinction entre les Huître portugaises femelles et les Huîtres portugaises mâles.

En ce qui concerne l'épithélium de la glande digestive, il apparaît au cours de la gamétogenèse chargé de réserves de graisses. Cette abondance d'enclaves lipidiques, serait pour Deflandre (1903)

l'indice d'une participation de la glande digestive à la formation des réserves des ovules. Mais la présence de granulations adipeuses dans les espaces interacineux signalée par cet auteur n'en constitue nullement une preuve décisive. Il est en effet difficile d'admettre que ces granulations viennent directement des acini digestifs pour être conduites au voisinage des ovules ; il semble que leur origine soit tout autre et qu'elles appartiennent en réalité aux cellules de Leydig du tissu conjonctif vésiculeux développé entre les tubules et les conduits de la glande digestive.

Laboratoire de Malacologie du Muséum et Laboratoire d'Anatomie et d'Histologie comparées de la Sorbonne.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1934. Bergmann (W.). *Jour. of Biol. Chem.* 104.

1922. Daniel (R.-J.). Rev. for 1922 on the Lancashire Sea Lab.

1903. Deflandre (C.). Thèse Fac. Sci. Paris.

1877. Flemming (W.). *Arch. f. Mikrosk. Anat.*, Bd XIII.

1928. Galstoff (P. S.). *Bull. U. S. Bur. of Fish.* 44.

1928. Kauffmann (C,) et Lehmann (E.). *Virch. Arch.* 270.

1933. Lison (L.). *Bull. Hist. appl.* X.

1902. List (T.). Fauna und Flora Golfes Neapel. 27.

1900. Mac Munn (C.-A.). *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond.*, 193.

1911. Malcolm (J.). *Trans. and Proc of the New Zealand Inst* 44.

1934. Masumoto (B.) et Hibino (M.). *Jour. Sci. Hiroshima Univ.*, Sér. A, 4.

1902. Pekelharing (C.-A.). Petrus Camper D. 1.

1919. Terroine (E.-F.). Thèse Fac. sci. Paris.

1887. Thiele (J.). *Zeit. f. Wiss. Zool.* Bd. XLIV

1937. Verne (J.). *Bull. Hist. appl.*, XIV.

1926. Yonge (C.-M.). *Trans. Roy. Soc. Edin.*, 54.

Le Gérant : Marc André.

ABBEVILLE. — IMPRIMERIE F. PAILLART (C. O. L. 31.0832). — 15-2-1945